

## PATENT COOPERATION TREATY

PCT

## NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

## From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents  
United States Patent and Trademark  
Office  
Box PCT  
Washington, D.C.20231  
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

<b>Date of mailing (day/month/year)</b> 22 March 2000 (22.03.00)	in its capacity as elected Office
<b>International application No.</b> PCT/DE99/02601	<b>Applicant's or agent's file reference</b> 197-2 PCT
<b>International filing date (day/month/year)</b> 16 August 1999 (16.08.99)	<b>Priority date (day/month/year)</b> 14 August 1998 (14.08.98)
<b>Applicant</b>	
SCHMIDT, Harald et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

24 February 2000 (24.02.00)

in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election  was

was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

<p><b>The International Bureau of WIPO</b>  <b>34, chemin des Colombettes</b>  <b>1211 Geneva 20, Switzerland</b></p> <p>Facsimile No.: (41-22) 740.14.35</p>	<p><b>Authorized officer</b></p> <p><b>Kiwa Mpay</b></p> <p>Telephone No.: (41-22) 338.83.38</p>
---	--

79/762767  
Translation  
SACO

**PATENT COOPERATION TREATY  
PCT**  
**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**  
(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 197-2 PCT	<b>FOR FURTHER ACTION</b>	See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)
International application No. PCT/DE99/02601	International filing date (day/month/year) 16 August 1999 (16.08.99)	Priority date (day/month/year) 14 August 1998 (14.08.98)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/60		
Applicant VASOPHARM BIOTECH GMBH & CO. KG		

<p>1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>7</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of <u>4</u> sheets.</p>
<p>3. This report contains indications relating to the following items:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</li> <li>II <input type="checkbox"/> Priority</li> <li>III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</li> <li>IV <input checked="" type="checkbox"/> Lack of unity of invention</li> <li>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</li> <li>VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited</li> <li>VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application</li> <li>VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application</li> </ul>

Date of submission of the demand 24 February 2000 (24.02.00)	Date of completion of this report 02 January 2001 (02.01.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Faxsimile No.	Telephone No.

**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**

International application No.

PCT/DE99/02601

**I. Basis of the report**

1. With regard to the elements of the international application:\*

the international application as originally filed

the description:

pages \_\_\_\_\_ 1-37 \_\_\_\_\_, as originally filed

pages \_\_\_\_\_, filed with the demand

pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

the claims:

pages \_\_\_\_\_, as originally filed

pages \_\_\_\_\_, as amended (together with any statement under Article 19)

pages \_\_\_\_\_, filed with the demand

pages \_\_\_\_\_ 1-13 \_\_\_\_\_, filed with the letter of 05 September 2000 (05.09.2000)

the drawings:

pages \_\_\_\_\_ 1/28-28/28 \_\_\_\_\_, as originally filed

pages \_\_\_\_\_, filed with the demand

pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

the sequence listing part of the description:

pages \_\_\_\_\_, as originally filed

pages \_\_\_\_\_, filed with the demand

pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item. These elements were available or furnished to this Authority in the following language \_\_\_\_\_ which is:

the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).

the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).

the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

contained in the international application in written form.

filed together with the international application in computer readable form.

furnished subsequently to this Authority in written form.

furnished subsequently to this Authority in computer readable form.

The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.

The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4.  The amendments have resulted in the cancellation of:

the description, pages \_\_\_\_\_

the claims, Nos. \_\_\_\_\_

the drawings, sheets/fig. \_\_\_\_\_

5.  This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).\*\*

\* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

\*\* Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**International application No.  
PCT/DE99/02601**IV. Lack of unity of invention**

## 1. In response to the invitation to restrict or pay additional fees the applicant has:

- restricted the claims.
- paid additional fees.
- paid additional fees under protest.
- neither restricted nor paid additional fees.

2.  This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose, according to Rule 68.1, not to invite the applicant to restrict or pay additional fees.

## 3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rules 13.1, 13.2 and 13.3 is

- complied with.
- not complied with for the following reasons:

See Supplemental Box

## 4. Consequently, the following parts of the international application were the subject of international preliminary examination in establishing this report:

- all parts.
- the parts relating to claims Nos. \_\_\_\_\_

**Supplemental Box**

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: IV

Human soluble guanylyl cyclase  $\alpha 1$ /(hsGC $\alpha$ / $\beta 1$ ) is already known from D1. The DNA sequence of the various chains of the aforementioned guanylyl cyclase is also known and Claims 1 to 15 are therefore not linked by a common inventive concept.

The present claims therefore do not meet the requirements of PCT Rule 13(1).

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.  
PCT/DE 99/02601

## V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

## 1. Statement

Novelty (N)	Claims	YES
	Claims	1
Inventive step (IS)	Claims	YES
	Claims	2-15
Industrial applicability (IA)	Claims	1-15
	Claims	NO

## 2. Citations and explanations

This report makes reference to the following documents:

D1: BEHRENDS ET AL.: 'A variant of the alpha 2 subunit of soluble guanylyl cyclase contains an insert homologous to a region within adenylyl cyclases and functions as a dominant negative protein' THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 270, no. 36, 8 September 1995 (1995-09-08), pages 21109-21113, XP002132769

D2: GUPTA ET AL.: 'Expression and purification of soluble, active heterodimeric guanylyl cyclase from baculovirus' PROTEIN EXPRESSION AND PURIFICATION, vol. 10, no. 3, August 1997 (1997-08), pages 325-330, XP000877369

D3: OLSEN ET AL.: 'Selective guanylyl cyclase inhibitor reverses nitric oxide-induced vasorelaxation' HYPERTENSION, vol. 29, 1997, pages 254-261, XP002132772.

1. Human soluble guanylyl cyclase  $\alpha 1$ /(hsGC $\alpha 1$ ); SEQ ID. NO:2/ $\beta 1$ /(hsGC $\alpha 1\beta 1$ ; SEQID:4) of Claim 1 is not novel

for the following reasons (PCT Article 33(2)).

D1 already discloses a purified soluble heterodimeric variant of the aforementioned enzyme, which is also active (see page 2111, left column, second paragraph, lines 9-23, right column Table I, Figure 3 and page 21110, left column, last paragraph).

It should be noted that a protein is not novel owing to larger amounts of an active protein being produced. Furthermore, a protein is novel only if it differs from the known protein in essential properties.

The subunits of guanylyl cyclase  $\alpha 1$  and  $\beta 1$  in D1 also originate from humans, since only cDNA of human origin is used in the method section of D1 (page 21109, right column, penultimate paragraph). The reference on page 2110, left column, second paragraph, lines 12 and 13) to document (27) does not mean that the subunits  $\alpha 1$  and  $\beta 1$  are produced from the same species (rat or cow) as indicated in that document, but only that the transfer vectors were constructed as in document (27).

The sequences indicated in Claim 1 represent inherent features. These features do not, however make known proteins novel, but merely characterize the known substances in greater detail.

2. Antibodies that recognize a known protein are not inventive, since producing them involves only routine measures.

The selection of a particular peptide sequence does not require an inventive step, since a person skilled in the art, using routine measures, is capable of finding the pertinent parts (sequencing and computer

analysis). Claims 13 to 15 are therefore not inventive.

3. The genetic engineering method for producing the coding protein in prokaryontic and eukaryontic host cells is a problem solved by a person skilled in the art using routine methods.

Claims 2, 3 and 6 to 8 are therefore not inventive.

Claims 4 and 5 are also obvious, since producing guanylyl cyclase subunits via "affinity tags" is already known from D2 for the corresponding subunits from rats (page 325, left column, abstract).

4. The therapeutic role of  $\alpha 1$  and  $\beta 1$  guanylyl cyclase in cardiac vessel disease appears to be already known from D3. A gene therapy application of the nucleic acids coding for guanylyl cyclase is therefore also obvious to a person skilled in the art.

Claims 9 to 12 are therefore not inventive.

5. Since the cDNA sequences for the  $\alpha 1$  and  $\beta 1$  chains of guanylyl cyclase are already known (D1, page 21190, left column, second paragraph, lines 7 and 8), whether from humans or from cows or rats, it is obvious to a person skilled in the art to derive the subunits coding for and the antibodies directed against the sequences. Their application in therapy and medicine is also obvious.

09/762767

**VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM**  
**OBJET DES PATENTWESENS**

**PCT**

REC'D 05 JAN 2001

WIPO

PCT

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT**

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts  197-2 PCT	<b>WEITERES VORGEHEN</b>	siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)
Internationales Aktenzeichen  PCT/DE99/02601	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)  16/08/1999	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag)  14/08/1998
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK  C12N15/60		
Anmelder  VASOPHARM BIOTECH GMBH & CO. KG et al.		
<p>1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.</p> <p>2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 7 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).</p> <p>Diese Anlagen umfassen insgesamt 4 Blätter.</p>		
<p>3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>I <input checked="" type="checkbox"/> Grundlage des Berichts</li> <li>II <input type="checkbox"/> Priorität</li> <li>III <input type="checkbox"/> Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erforderliche Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit</li> <li>IV <input checked="" type="checkbox"/> Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung</li> <li>V <input checked="" type="checkbox"/> Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erforderlichen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung</li> <li>VI <input type="checkbox"/> Bestimmte angeführte Unterlagen</li> <li>VII <input type="checkbox"/> Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung</li> <li>VIII <input type="checkbox"/> Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung</li> </ul>		

Datum der Einreichung des Antrags  24/02/2000	Datum der Fertigstellung dieses Berichts  02.01.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:   Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter  Zellner, E  Tel. Nr. +49 89 2399 8427



INTERNATIONALER VORLÄUFIGER  
PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/02601

**I. Grundlag des B richts**

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten.:*)

**Beschreibung, Seiten:**

1-37 ursprüngliche Fassung

**Patentansprüche, Nr.:**

1-13 eingegangen am 05/09/2000 mit Schreiben vom 05/09/2000

**Zeichnungen, Blätter:**

1/28-28/28 ursprüngliche Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER  
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/02601

Beschreibung, Seiten:  
 Ansprüche, Nr.:  
 Zeichnungen, Blatt:

5.  Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

*(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).*

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

**IV. Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung**

1. Auf die Aufforderung zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren hat der Anmelder:

die Ansprüche eingeschränkt.  
 zusätzliche Gebühren entrichtet.  
 zusätzliche Gebühren unter Widerspruch entrichtet.  
 weder die Ansprüche eingeschränkt noch zusätzliche Gebühren entrichtet.

2.  Die Behörde hat festgestellt, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung nicht erfüllt ist, und hat gemäß Regel 68.1 beschlossen, den Anmelder nicht zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren aufzufordern.

3. Die Behörde ist der Auffassung, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung nach den Regeln 13.1, 13.2 und 13.3

erfüllt ist  
 aus folgenden Gründen nicht erfüllt ist:  
**siehe Beiblatt**

4. Daher wurde zur Erstellung dieses Berichts eine internationale vorläufige Prüfung für folgende Teile der internationalen Anmeldung durchgeführt:

alle Teile.  
 die Teile, die sich auf die Ansprüche Nr. beziehen.

**V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER  
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/02601

**1. Feststellung**

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche Nein: Ansprüche	1
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche Nein: Ansprüche	2-15
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche Nein: Ansprüche	1-15

**2. Unterlagen und Erklärungen  
siehe Beiblatt**

Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

D1: BEHRENDS ET AL.: 'A variant of the alpha 2 subunit of soluble guanylyl cyclase contains an insert homologous to a region within adenylyl cyclases and functions as a dominant negative protein' THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, Bd. 270, Nr. 36, 8. September 1995 (1995-09- 08), Seiten 21109-21113, XP002132769

D2: GUPTA ET AL.: 'Expression and purification of soluble, active heterodimeric guanylyl cyclase from baculovirus' PROTEIN EXPRESSION AND PURIFICATION, Bd. 10, Nr. 3, August 1997 (1997-08), Seiten 325-330, XP000877369

D3: OLSON ET AL.: 'Selective guanylyl cyclase inhibitor reverses nitric oxide-induced vasorelaxation' HYPERTENSION, Bd. 29, 1997, Seiten 254-261, XP002132772

**Item IV**

Humane lösliche Guanylylcyclase  $\alpha$ 1/(hsGC $\alpha$ / $\beta$ 1) ist bereits aus D1 bekannt. Die DNA Sequenz der einzelnen Ketten der oben genannten Guanylylcyclase ist ebenfalls bekannt daher gibt es kein gemeinsame erfiederisches Konzept in den Ansprüchen 1-15.

Die gegenwärtigen Ansprüche erfüllen daher nicht die Erfordernisse von Regel 13(1) PCT.

**Item V**

1. Die humane lösliche Guanylylcyclase  $\alpha$ 1 (hsGC $\alpha$ 1); SEQ ID. NO:2/ $\beta$ 1 (hsGC $\alpha$ 1 $\beta$ 1;SEQID:4) von Anspruch 1 ist aus folgenden Gründen nicht neu (Artikel 33 (2) PCT).

In D1 ist bereits eine gereinigte lösliche heterodimere Form des oben genannten Enzyms beschrieben, welches auch aktiv ist (siehe Seite 2111, linke Spalte Absatz 2, Zeile 9 - 23, rechte Spalte Table I, Fig. 3 und Seite 21110, linke Spalte letzter Absatz).

Es wird darauf hingewiesen, daß ein Protein nicht neu wird, indem es größere

Mengen an aktivem Protein herstellt werden. Außerdem ist es nur dann neu, wenn es sich in wesentlichen Eigenschaften von dem bereits bekannten Protein unterscheidet.

Die Untereinheiten der Guanylylcyclase  $\alpha$ 1 und  $\beta$ 1 in D1 stammen ebenfalls aus dem Menschen, da im Methodenteil von D1 ausschließlich cDNAs menschlichen Ursprungs verwendet werden (Seite 21109, rechte Spalte, vorletzter Absatz). Der Bezug auf Seite 2110, linke Spalte, Absatz 2, Zeilen 12 und 13) auf Dokument (27) heißt nicht, daß die Herstellung der Untereinheiten  $\alpha$ 1 und  $\beta$ 1 aus der gleichen Spezies (Ratte oder Rind) wie in diesem Dokument angegeben ist erfolgt, sondern daß lediglich die Transfervektoren wie in Dokument (27) konstruiert wurden.

Die in Anspruch 1 angegebenen Sequenzen stellen inhärente Merkmale dar. Die Angabe von diesen Merkmalen heißt jedoch nicht, daß bereits bekannte Proteine dadurch neu werden, sondern stellen lediglich eine weitere Charakterisierung von bekannten Stoffen dar.

2. Antikörper die ein bekanntes Protein erkennen sind nicht erfinderisch, da ihre Herstellung nur Routinemaßnahmen beinhaltet.  
Auch die Auswahl einer bestimmten Peptidsequenz erfordert keinen erfinderischen Schritt, da der Fachmann mit Hilfe von Routinemaßnahmen in der Lage ist wichtige Teile herauszusuchen (Sequenzierung und Computeranalyse). Die Ansprüche 13-15 sind daher nicht erfinderisch.
3. Die gentechnischen Verfahren zur Herstellung der kodierenden Proteine in pro- und eukaryontischen Wirtszellen ist für den Fachmann ein Problem welches mit Routinemethoden gelöst wird.

Die Ansprüche 2, 3 und 6-8 sind daher nicht erfindersich.

Die Ansprüche 4 und 5 sind ebenfalls naheliegend, da die Herstellung von Guanylylcyclase Untereinheiten über "Affinitätstags" bereits aus D2 für die entsprechenden Untereinheiten aus Ratten beschrieben sind (Seite 325, linke Spalte, abstract).

4. Die therapeutische Rolle bei Herzgefäßkrankungen

von  $\alpha 1/\beta 1$  Guanylylcyclase scheint bereits aus D3 bekannt zu sein. Eine gentherapeutische Anwendung der für Guanylylcyclase kodierenden Nukleinsäure ist daher für den Fachmann ebenfalls naheliegend. Die Ansprüche 9-12 sind somit nicht erfinderisch.

5. Nachdem die cDNA Sequenzen für die  $\alpha 1$  und  $\beta 1$ - Ketten der Guanylylcyclase bereits bekannt sind (D1 Seite 21190, linke Spalte 2. Absatz Zeile 7 und 8) sei es aus dem Menschen oder aus Rind oder Ratte, ist für den Fachmann naheliegend, die dafür kodierenden Untereinheiten, sowie dagegen gerichtete Antikörper abzuleiten. Ebenso ist deren Anwendung in Therapie und Medizin naheliegend.

05. Sep. 2000

5

## PATENTANSPRÜCHE

- 10 1. Isolierte und zur apparenten Homogenität gereinigte humane lösliche Guanylylcyclase  $\alpha 1/\beta 1$  (hsGC $\alpha 1/\beta 1$ ); SEQ ID NO: 2) /  $\beta 1$  (hsGC $\beta 1$ ; SEQ ID NO: 4).  
 $\alpha 1$  (hsGC $\alpha 1$ ; SEQ ID NO: 2),  $\beta 1$  (hsGC $\beta 1$ ; SEQ ID NO: 4)
- 2 15 2. Verfahren zur Herstellung der Untereinheit  $\alpha 1$  und/oder  $\beta 1$  der humanen löslichen Guanylylcyclase, umfassend die Expression von die DNA-Sequenz für hsGC $\alpha 1$  und/oder hsGC $\beta 1$  enthaltenden Expressionsvektoren in prokaryontischen oder eukaryontischen Wirtszellen und Gewinnung ~~der Untereinheit bzw. der~~ Untereinheiten.
- 3 20 3. Verfahren zur Herstellung der Untereinheit  $\alpha 1$  und/oder  $\beta 1$  der humanen löslichen Guanylylcyclase gemäß Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß der Schritt der Gewinnung ~~der Untereinheit bzw.~~ der Untereinheiten eine Lyse der Zellen, die Affinitätschromatographie des Zell-Lysats und die anschließende Elution der Untereinheit~~en~~ umfaßt.
- 4 25 4. Verfahren zur Herstellung der Untereinheit  $\alpha 1$  und/oder  $\beta 1$  der humanen löslichen Guanylylcyclase gemäß Anspruch 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, daß der Expressionsvektor zusätzlich mindestens eine DNA-Sequenz für eine Domäne zur spezifischen Affinitätschromatographie (Affinitätstag) mit anhängender Proteaseschnittstelle enthält.

5. Verfahren zur Herstellung der Untereinheit  $\alpha 1$  und/oder  $\beta 1$  der humanen löslichen Guanylylcyclase gemäß Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß der Expressionsvektor die DNA-Sequenz für hsGC $\alpha 1$  mit Affinitätstag, die DNA-Sequenz für hsGC $\beta 1$  mit Affinitätstag, die DNA-Sequenz für hsGC $\alpha 1$  mit 5 Affinitätstag und die DNA-Sequenz für hsGC $\beta 1$ , die DNA-Sequenz für hsGC $\beta 1$  mit Affinitätstag und die DNA-Sequenz für hsGC $\alpha 1$  oder die DNA-Sequenz für hsGC $\alpha 1$  mit Affinitätstag und die DNA-Sequenz für hsGC $\beta 1$  mit Affinitätstag enthält.

6. Verfahren zur Herstellung der humanen löslichen Guanylylcyclase  $\alpha 1/\beta 1$  (SEQ ID NO:2)/ $\beta 1$  (hsGC $\beta 1$ ; SEQ ID NO:4), 10 umfassend die getrennte Expression eines die DNA-Sequenz für hsGC $\alpha 1$  oder hsGC $\beta 1$  enthaltenden Expressionsvektors in prokaryontischen oder eukaryontischen Wirtszellen, Gewinnung der Untereinheiten und Kombinieren der Untereinheiten hsGC $\alpha 1$  und hsGC $\beta 1$  zur dimeren Guanylylcyclase  $\alpha 1/\beta 1$  (hsGC $\alpha 1/\beta 1$ ). 15

7. Verfahren zur Herstellung der humanen löslichen Guanylylcyclase  $\alpha 1/\beta 1$  (hsGC $\alpha 1/\beta 1$ ) gemäß Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß der Schritt der Gewinnung der Untereinheiten eine getrennte Lyse der hsGC $\alpha 1$  bzw. hsGC $\beta 1$  enthaltenden Zellen, die getrennte Affinitätschromatographie der Zell-Lysate und 20 die anschließende Elution der Untereinheiten umfaßt.

8. Verfahren zur Herstellung der humanen löslichen Guanylylcyclase  $\alpha 1/\beta 1$  (SEQ ID NO:2)/ $\beta 1$  (hsGC $\beta 1$ ; SEQ ID NO:4), 25 umfassend die Koexpression der DNA-Sequenzen für hsGC $\alpha 1$  und hsGC $\beta 1$  in prokaryontischen oder eukaryontischen Wirtszellen, eine Lyse der hsGC $\alpha 1$  und hsGC $\beta 1$  enthaltenden Zellen, die Affinitätschromatographie und die anschließende Elution von hsGC $\alpha 1/\beta 1$ .

9. Verwendung einer Nukleinsäuresequenz, die die Untereinheit hsGC $\alpha 1$  und/oder hsGC $\beta 1$  der humanen löslichen Guanylylcyclase  $\alpha 1/\beta 1$  kodiert, für die somatische Gentherapie. 30 (SEQ ID NO:2)

10. Verwendung nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß Vektoren oder ein Gemisch von Vektoren, die Nukleinsäuresequenz für humane lösliche Guanylylcyclase  $\alpha 1$  (hsGC $\alpha 1$ ) und/oder humane lösliche Guanylylcyclase  $\beta 1$  (hsGC $\beta 1$ ) enthalten.

11. Verwendung nach Anspruch 9 oder 10 zur Prävention und Therapie von Atherosklerose und ihren Folgeerkrankungen, von Restenose, Ischämie (Infarkt), peripheren arteriellen Verschlußkrankheiten und arterieller Hypertonie sowie zur 10 Prävention bei Patienten mit Risikofaktoren für Atherosklerose, transitorische ischämische Attacken, zerebrale Ischämie, Schlaganfall (Apoplex), Koronare Herzkrankheit, Zustand nach koronarer Bypass-Operation, Carotisstenose, zur Verstärkung einer Therapie mit sGC-Aktivatoren, sGC-sensitivierenden Substanzen, Stickstoffmonoxid (NO)-Donoren oder Phosphodiesterase-Hemmstoffen, 15 Herzinsuffizienz und Leberfunktionsstörungen.

12. Verwendung nach einem der Ansprüche 9 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß der somatische Gentransfer erfolgt in Endothelzellen, glatte Blutgefäßmuskelzellen, Neointimazellen, Fibroblasten oder andere Blutgefäßzellen 20 oder in die korpuskulären Blutbestandteile (Thrombozyten, Leukozyten und andere) oder in die Leber.

13. Antikörper gegen humane lösliche Guanylylcyclase  $\alpha 1/\beta 1$  (hsGC $\alpha 1/\beta 1$ ),  
; SEQ ID NO:2)/ $\beta 1$  (hsGC $\beta 1$ ; SEQ ID NO:4)  
erhältlich durch Immunisieren eines Säugers mit hsGC $\alpha 1/\beta 1$ , der Untereinheit  $\alpha 1$   
25 oder  $\beta 1$  oder immunogenen Peptidfragmenten davon (und Isolieren der Antikörper.)

14. Antikörper nach Anspruch 13, erhältlich durch Immunisieren eines Säugers mit dem Peptidfragment Phe-Thr-Pro-Arg-Ser-Arg-Glu-Glu-Leu-Pro-Pro-Asn-Phe-Pro oder Teilen hieraus oder hiermit überlappenden immunogenen 30 Peptidfragmenten, oder

41 05. Sep. 2000

15. Antikörper nach Anspruch 13, erhältlich durch Immunisieren eines Säugers mit dem Peptidfragment Lys-Gly-Lys-Lys-Glu-Pro-Met-Gln-Val-Trp-Phe-Leu-Ser-Arg-Lys-Asn-Thr-Gly-Thr-Glu-Glu-Thr oder immunogenen Fragment oder hiermit 5 überlappenden immunogenen Peptidfragmenten < >.

09 / 762767

**VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT  
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESE**

**PCT**

**INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT**

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>197-2 PCT</b>	<b>WEITERES VORGEHEN</b>	siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/DE 99/ 02601</b>	Internationales Anmelde datum (Tag/Monat/Jahr) <b>16/08/1999</b>	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) <b>14/08/1998</b>	
Anmelder <b>VASOPHARM BIOTECH GMBH &amp; CO. KG et al.</b>			

Dieser Internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser Internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 5 Blätter.

Darüber hinaus liegt Ihnen jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

**1. Grundlage des Berichts**

a. Hinsichtlich der Sprache ist die Internationale Recherche auf der Grundlage der Internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der Internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

b. Hinsichtlich der in der Internationalen Anmeldung offenbarten Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz ist die Internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

in der Internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.

zusammen mit der Internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der Internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2.  Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3.  Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

**4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung**

wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

**5. Hinsichtlich der Zusammenfassung**

wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses Internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

**6. Folgende Abbildung der Zeichnungen ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. 1**

wie vom Anmelder vorgeschlagen

weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

keine der Abb.

## Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1.  Ansprüche Nr.

wie sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich

**Bemerkung: Obwohl die Ansprüche 9-12 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.**

2.  Ansprüche Nr.

wie sie sich auf Teile der Internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle Internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich

3.  Ansprüche Nr.

wie es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

## Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die Internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese Internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

siehe Zusatzblatt

1.  Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser Internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.

2.  Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.

3.  Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser Internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.

4.  Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der Internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.

Die Zahlung zusätzlicher Recherchengebühren erfolgte ohne Widerspruch.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

1. Ansprüche: 1-8

Isolierte und zur apparenten Homogenität gereinigte humane lösliche guanylylcyclase alphas/betas. Ein Verfahren zur Herstellung der humanen löslichen guanylylcyclase alphas/betas und ein Verfahren zur Herstellung der Untereinheit alphas und/oder betas der humanen löslichen Guanylylcyclase

2. Ansprüche: 9-12

Verwendung einer Nukleinsäuresequenz, die die Untereinheit alphas und/oder betas der humanen löslichen guanylylcyclase alphas/betas kodiert, für die Somatiche Gentherapie

3. Ansprüche: 13-15

Antikörper gegen humane lösliche Guanylylcyclase alphas/betas erhältlich durch Immunisieren eines Säugers mit hsGCalphas/betas, der Untereinheit alphas oder betas oder immunogenen Peptidfragmenten davon und Isolieren der Antikörper

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

1. Ansprüche: 1-8

Isolierte und zur apparenten Homogenität gereinigte humane lösliche guanylylcyclase alphas/betas. Ein Verfahren zur Herstellung der humanen löslichen guanylylcyclase alphas/betas und ein Verfahren zur Herstellung der Untereinheit alphas und/oder betas der humanen löslichen Guanylylcyclase

2. Ansprüche: 9-12

Verwendung einer Nukleinsäuresequenz, die die Untereinheit alphas und/oder betas der humanen löslichen guanylylcyclase alphas/betas kodiert, für die somatische Gentherapie

3. Ansprüche: 13-15

Antikörper gegen humane lösliche Guanylylcyclase alphas/betas erhältlich durch Immunisieren eines Säugers mit hsGCalphas/betas, der Untereinheit alphas oder betas oder immunogenen Peptidfragmenten davon und Isolieren der Antikörper.

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT 99/02601

## A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C12N15/60 C12N15/62 C12N9/88 C12P21/02 C07K16/40  
A61K48/00 A61P9/10

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestpräzision (Klassifikationssystem und Klassifikationsymbole)

IPK 7 C12N C12P C07K A61K A61P

Recherchierte aber nicht zum Mindestpräzision gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	BEHRENDs ET AL.: "A variant of the alpha 2 subunit of soluble guanylyl cyclase contains an insert homologous to a region within adenylyl cyclases and functions as a dominant negative protein" THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, Bd. 270, Nr. 36, 8. September 1995 (1995-09-08), Seiten 21109-21113, XP002132769 Seite 21109 -Seite 21111; Abbildung 3; Tabelle 1 ----	1-13, 15
X	GANSEMANS ET AL.: "Human soluble guanylate cyclase large subunit mRNA, alpha3-like" EMBL DATABASE ACC NO: U58855, 9. Januar 1998 (1998-01-09), XP002132770 Zusammenfassung ----	1-13 -/-

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem Internationalen Anmeldeatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchebericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenlegung, eine Benutzung, eine Auseitung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem Internationalen Anmeldeatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem Internationalen Anmeldeatum oder dem Prioritätsatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche

Absendedatum des Internationalen Rechercheberichts

16. März 2000

03/04/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 91 651 epo nl.  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

van Klompenburg, W

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie:	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	GIUILI ET AL.: "Molecular cloning of the cDNAs coding for the two subunits of soluble guanylyl cyclase from human brain" FEBS LETTERS, Bd. 304, Juni 1992 (1992-06), Seiten 83-88, XP002132771 in der Anmeldung erwähnt Abbildungen 1,2,4 ----	1-13
X	GUPTA ET AL.: "Expression and purification of soluble, active heterodimeric guanylyl cyclase from baculovirus" PROTEIN EXPRESSION AND PURIFICATION, Bd. 10, Nr. 3, August 1997 (1997-08), Seiten 325-330, XP000877369 Seite 325 -Seite 328; Abbildungen 3-5; Tabelle 1 ----	1-13
A	OLSON ET AL.: "Selective guanylyl cyclase inhibitor reverses nitric oxide-induced vasorelaxation" HYPERTENSION, Bd. 29, 1997, Seiten 254-261, XP002132772 Seite 255; Abbildungen 1,2 ----	9-12
P,X	ZABEL ET AL.: "Human soluble guanylate cyclase: functional expression and revised isoenzyme family" BIOCHEMICAL JOURNAL, Bd. 335, Oktober 1998 (1998-10), Seiten 51-57, XP002132773 Abbildungen 1-3,5 ----	1-8, 13-15
P,X	ZABEL ET AL.: "Homodimerization of soluble guanylyl cyclase subunits" THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, Bd. 274, Nr. 26, 25. Juni 1999 (1999-06-25), Seiten 18149-18152, XP002132774 Seite 18150, Spalte 2 -Seite 18152; Abbildungen 1-3 -----	1-8, 13-15

**VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM**  
**OBJET DES PATENTWESEN**

Absender: MIT DER INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN  
 PRÜFUNG BEAUFTRAGTE BEHÖRDE

1762767

An:

VOSSIUS, Volker, VOSSIUS, Corinna

VOSSIUS, Tilman, ADAM HUG  
 Holbeinstraße 5  
 81679 München  
 ALLEMAGNE

**DR VOLKER VOSSIUS  
 EINGEGANGEN**

**23. Mai 2000**

**FRIST 22. 8. 00  
 BEARB: 1. 8. 00**

3. 8. 00 *uuf ch*

**PCT**

**SCHRIFTLICHER BESCHEID**  
 (Regel 66 PCT)

Absendedatum  
 (Tag/Monat/Jahr) 22.05.2000

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts

197-2 PCT

**ANTWORT FÄLLIG** innerhalb von **3 Monat(en)**

ab obigem Absendedatum

Internationales Aktenzeichen  
 PCT/DE99/02601

Internationales Anmelde datum (Tag/Monat/Jahr)  
 16/08/1999

Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr)  
 14/08/1998

Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK

C12N15/60

Anmelder

VASOPHARM BIOTECH GMBH & CO. KG et al.

1. Dieser Bescheid ist der **erste** schriftliche Bescheid der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde

2. Dieser Bescheid enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I  Grundlage des Bescheides
- II  Priorität
- III  Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV  Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V  Begründete Feststellung nach Regel 66.2(a)(ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI  Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII  Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII  Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

3. Der Anmelder wird **aufgefordert**, zu diesem Bescheid **Stellung zu nehmen**

**Wann?** Siehe oben genannte Frist. Der Anmelder kann vor Ablauf dieser Frist bei der Behörde eine Verlängerung beantragen, siehe Regel 66.2 d).

**Wie?** Durch Einreichung einer schriftlichen Stellungnahme und gegebenenfalls von Änderungen nach Regel 66.3. Zu Form und Sprache der Änderungen, siehe Regeln 66.8 und 66.9.

**Dazu:** Hinsichtlich einer zusätzlichen Möglichkeit zur Einreichung von Änderungen, siehe Regel 66.4. Hinsichtlich der Verpflichtung des Prüfers, Änderungen und/oder Gegenvorstellungen zu berücksichtigen, siehe Regel 66.4 bis. Hinsichtlich einer formlosen Erörterung mit dem Prüfer, siehe Regel 66.6.

Wird **keine Stellungnahme eingereicht**, so wird der internationale vorläufige Prüfungsbericht auf der Grundlage dieses Bescheides erstellt.

4. Der Tag, an dem der internationale vorläufige Prüfungsbericht gemäß Regel 69.2 spätestens erstellt sein muß, ist der: 14/12/2000.

Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragte Behörde:



Europäisches Patentamt

D-80298 München

Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d

Fax: +49 89 2399 - 4465

Bevollmächtigter Bediensteter / Prüfer

Zellner, E

Formalsachbearbeiter (einschl. Fristverlängerung)

Vullo, C

Tel. +49 89 2399 8061



**I. Grundlage des Bescheids**

1. Dieser Bescheid wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Bescheids als "ursprünglich eingereicht"*):

**Beschreibung, Seiten:**

1-37 ursprüngliche Fassung

**Patentansprüche, Nr.:**

1-15 ursprüngliche Fassung

**Zeichnungen, Blätter:**

1/28-28/28 ursprüngliche Fassung

**2. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:**

Beschreibung, Seiten:  
 Ansprüche, Nr.:  
 Zeichnungen, Blatt:

**3. Dieser Bescheid ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)):****4. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:****IV. Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung****1. Auf die Aufforderung zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren (Formblatt PCT/IPEA/405) hat der Anmelder:**

die Ansprüche eingeschränkt.  
 zusätzliche Gebühren entrichtet.  
 zusätzliche Gebühren unter Widerspruch entrichtet.  
 weder die Ansprüche eingeschränkt noch zusätzliche Gebühren entrichtet.

2.  Die Behörde hat festgestellt, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung aus folgenden Gründen nicht erfüllt ist, und hat gemäß Regel 68.1 beschlossen, den Anmelder nicht zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren aufzufordern:

**siehe Beiblatt**

3. Daher wurde zur Erstellung dieses Bescheids eine internationale vorläufige Prüfung für folgende Teile der internationalen Anmeldung durchgeführt:

alle Teile.  
 die Teile, die sich auf die Ansprüche Nr. beziehen.

**V. Begründete Feststellung nach Regel 66.2(a)(ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ansprüche 1
Erfinderische Tätigkeit (IS)	Ansprüche 2-15
Gewerbliche Anwendbarkeit (IA)	Ansprüche

2. Unterlagen und Erklärungen:

**siehe Beiblatt**

D1: BEHRENDS ET AL.: 'A variant of the alpha 2 subunit of soluble guanylyl cyclase contains an insert homologous to a region within adenylyl cyclases and functions as a dominant negative protein' THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, Bd. 270, Nr. 36, 8. September 1995 (1995-09-08), Seiten 21109-21113, XP002132769

D2: GUPTA ET AL.: 'Expression and purification of soluble, active heterodimeric guanylyl cyclase from baculovirus' PROTEIN EXPRESSION AND PURIFICATION, Bd. 10, Nr. 3, August 1997 (1997-08), Seiten 325-330, XP000877369

D3: OLSON ET AL.: 'Selective guanylyl cyclase inhibitor reverses nitric oxide-induced vasorelaxation' HYPERTENSION, Bd. 29, 1997, Seiten 254-261, XP002132772

Item IV

Humane lösliche Guanylylcyclase  $\alpha 1/\beta 1$  ist bereits aus D1 bekannt. Die DNA Sequenz der einzelnen Ketten der oben genannten Guanylylcyclase ist ebenfalls bekannt daher gibt es kein gemeinsame erfiederisches Konzept in den Ansprüchen 1-15. Die gegenwärtigen Ansprüche erfüllen daher nicht die Erfordernisse von Regel 13(1) PCT.

Item V

1. Die humane lösliche Guanylylcyclase  $\alpha 1/\beta 1$  (hsGC $\alpha 1/\beta 1$ ) von Anspruch 1 ist aus folgenden Gründen nicht neu (Artikel 33 (2) PCT).  
In D1 ist bereits eine gereinigte lösliche heterodimere Form des oben genannten Enzyms beschrieben, welches auch aktiv ist (siehe Seite 2111, linke Spalte Absatz 2, Zeile 9 - 23, rechte Spalte Table I, Fig. 3 und Seite 2110, linke Spalte letzter Absatz).  
Zusätzlich wird darauf hingewiesen, daß ein Protein nicht neu wird, indem es größere Mengen an aktivem Protein herstellt werden. Außerdem ist es nur dann neu, wenn es sich in wesentlichen Eigenschaften von dem bereits bekannten Protein unterscheidet.
2. Antikörper die gegen ein bekanntes Protein erkennen sind nicht erfiederisch, da

ihre Herstellung nur Routinemaßnahmen beinhaltet.

Auch die Auswahl einer bestimmten Peptidsequenz erfordert keinen erfinderischen Schritt, da die gesamte Sequenz des Proteins bekannt sind (D1, linke Spalte Absatz 1, Zeile 7 und 8) und der Fachmann somit in der Lage ist über Computeranalyse wichtige Teile herauszusuchen.

Die Ansprüche 13-15 sind daher nicht erfinderisch.

3. Die cDNA-Sequenzen der menschlichen  $\alpha 1$ , sowie der menschlichen  $\beta 1$ -Kette von Guanylylcyclase sind bekannt. Die gentechnischen Verfahren zur Herstellung der kodierenden Proteine in pro- und eukaryontischen Wirtszellen ist daher für den Fachmann ein Problem welches mit Routinemethoden gelöst wird.

Die Ansprüche 2, 3 und 6-8 sind daher nicht erfindersich.

Die Ansprüche 4 und 5 sind ebenfalls naheliegend, da die Herstellung von Guanylylcyclase Untereinheiten über "Affinitätstags" bereits aus D2 für die entsprechenden Untereinheiten aus Ratten beschrieben sind (Seite 325, linke Spalte Abstract).

4. Die therapeutische Rolle bei Herzgefäßkrankungen von  $\alpha 1/\beta 1$  Guanylylcyclase scheint bereits aus D3 bekannt zu sein. Eine gentherapeutische Anwendung der für Guanylylcyclase kodierenden Nukleinsäure welche aus dem Stand der Technik ebenfalls bekannt ist (D1) ist daher für den Fachmann ebenfalls naheliegend.

Die Ansprüche 9-12 sind somit nicht erfinderisch.

**VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM  
GEBIET DES PATENTWESENS**

09/762767

Absender: MIT DER INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN  
PRÜFUNG BEAUFTRAGTE BEHÖRDE

An:

VOSSIUS, Volker, VOSSIUS Corinna,  
VOSSIUS, Tilman, ADAM Holger

Holbeinstraße 5  
81679 München  
ALLEMAGNE

**DR. VOLKER VOSSIUS  
EINGEGANGEN**  
**03. Jan. 2001**

FRIST  
BEARB:

**PCT**

**MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERSENDUNG  
DES INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN  
PRÜFUNGSBERICHTS**

(Regel 71.1 PCT)

Absendedatum  
(Tag/Monat/Jahr) 02.01.2001

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts

197-2 PCT

**WICHTIGE MITTEILUNG**

Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/02601	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 16/08/1999	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 14/08/1998
--	---	--

Anmelder

VASOPHARM BIOTECH GMBH & CO. KG et al.

1. Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß ihm die mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde hiermit den zu der internationalen Anmeldung erstellten internationalen vorläufigen Prüfungsbericht, gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen, übermittelt.
2. Eine Kopie des Berichts wird - gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen - dem Internationalen Büro zur Weiterleitung an alle ausgewählten Ämter übermittelt.
3. Auf Wunsch eines ausgewählten Amtes wird das Internationale Büro eine Übersetzung des Berichts (jedoch nicht der Anlagen) ins Englische anfertigen und diesem Amt übermitteln.

**4. ERINNERUNG**

Zum Eintritt in die nationale Phase hat der Anmelder vor jedem ausgewählten Amt innerhalb von 30 Monaten ab dem Prioritätsdatum (oder in manchen Ämtern noch später) bestimmte Handlungen (Einreichung von Übersetzungen und Entrichtung nationaler Gebühren) vorzunehmen (Artikel 39 (1)) (siehe auch die durch das Internationale Büro im Formblatt PCT/IB/301 übermittelte Information).

Ist einem ausgewählten Amt eine Übersetzung der internationalen Anmeldung zu übermitteln, so muß diese Übersetzung auch Übersetzungen aller Anlagen zum internationalen vorläufigen Prüfungsbericht enthalten. Es ist Aufgabe des Anmelders, solche Übersetzungen anzufertigen und den betroffenen ausgewählten Ämtern direkt zuzuleiten.

Weitere Einzelheiten zu den maßgebenden Fristen und Erfordernissen der ausgewählten Ämter sind Band II des PCT-Leitfadens für Anmelder zu entnehmen.

Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung  
beauftragten Behörde



Europäisches Patentamt  
D-80298 München  
Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d  
Fax: +49 89 2399 - 4465

Bevollmächtigter Bediensteter

Sülberg, A

Tel. +49 89 2399-7548



# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

## PCT

### INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 197-2 PCT	WEITERES VORGEHEN	siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)
Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/02601	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 16/08/1999	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 14/08/1998
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N15/60		
Anmelder VASOPHARM BIOTECH GMBH & CO. KG et al.		
<p>1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.</p> <p>2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 7 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).</p> <p>Diese Anlagen umfassen insgesamt 4 Blätter.</p>		
<p>3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Grundlage des Berichts II <input type="checkbox"/> Priorität III <input type="checkbox"/> Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erforderliche Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit IV <input checked="" type="checkbox"/> Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung V <input checked="" type="checkbox"/> Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erforderlichen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung VI <input type="checkbox"/> Bestimmte angeführte Unterlagen VII <input type="checkbox"/> Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung VIII <input type="checkbox"/> Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung</p>		

Datum der Einreichung des Antrags 24/02/2000	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 02.01.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde: Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Zellner, E Tel. Nr. +49 89 2399 8427



# INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/02601

## I. Grundlage des Berichts

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigefügt, weil sie keine Änderungen enthalten.:*)

### Beschreibung, Seiten:

1-37 ursprüngliche Fassung

### Patentansprüche, Nr.:

1-13 eingegangen am 05/09/2000 mit Schreiben vom 05/09/2000

### Zeichnungen, Blätter:

1/28-28/28 ursprüngliche Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER  
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/02601

Beschreibung, Seiten:  
 Ansprüche, Nr.:  
 Zeichnungen, Blatt:

5.  Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

*(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1. hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).*

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

**IV. Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung**

1. Auf die Aufforderung zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren hat der Anmelder:

die Ansprüche eingeschränkt.  
 zusätzliche Gebühren entrichtet.  
 zusätzliche Gebühren unter Widerspruch entrichtet.  
 weder die Ansprüche eingeschränkt noch zusätzliche Gebühren entrichtet.

2.  Die Behörde hat festgestellt, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung nicht erfüllt ist, und hat gemäß Regel 68.1 beschlossen, den Anmelder nicht zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren aufzufordern.

3. Die Behörde ist der Auffassung, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung nach den Regeln 13.1, 13.2 und 13.3

erfüllt ist  
 aus folgenden Gründen nicht erfüllt ist:  
**siehe Beiblatt**

4. Daher wurde zur Erstellung dieses Berichts eine internationale vorläufige Prüfung für folgende Teile der internationalen Anmeldung durchgeführt:

alle Teile.  
 die Teile, die sich auf die Ansprüche Nr. beziehen.

**V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erforderlichen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER  
PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/DE99/02601

**1. Feststellung**

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	
	Nein: Ansprüche	1
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	
	Nein: Ansprüche	2-15
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-15
	Nein: Ansprüche	

**2. Unterlagen und Erklärungen  
siehe Beiblatt**

Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

D1: BEHRENDS ET AL.: 'A variant of the alpha 2 subunit of soluble guanylyl cyclase contains an insert homologous to a region within adenylyl cyclases and functions as a dominant negative protein' THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, Bd. 270, Nr. 36, 8. September 1995 (1995-09-08), Seiten 21109-21113, XP002132769

D2: GUPTA ET AL.: 'Expression and purification of soluble, active heterodimeric guanylyl cyclase from baculovirus' PROTEIN EXPRESSION AND PURIFICATION, Bd. 10, Nr. 3, August 1997 (1997-08), Seiten 325-330, XP000877369

D3: OLSON ET AL.: 'Selective guanylyl cyclase inhibitor reverses nitric oxide-induced vasorelaxation' HYPERTENSION, Bd. 29, 1997, Seiten 254-261, XP002132772

#### Item IV

Humane lösliche Guanylylcyclase  $\alpha$ 1/(hsGC $\alpha$ / $\beta$ 1) ist bereits aus D1 bekannt. Die DNA Sequenz der einzelnen Ketten der oben genannten Guanylylcyclase ist ebenfalls bekannt daher gibt es kein gemeinsame erfinderisches Konzept in den Ansprüchen 1-15.

Die gegenwärtigen Ansprüche erfüllen daher nicht die Erfordernisse von Regel 13(1) PCT.

#### Item V

1. Die humane lösliche Guanylylcyclase  $\alpha$ 1 (hsGC $\alpha$ 1); SEQ ID. NO:2/ $\beta$ 1 (hsGC $\alpha$ 1B1;SEQID:4) von Anspruch 1 ist aus folgenden Gründen nicht neu (Artikel 33 (2) PCT).

In D1 ist bereits eine gereinigte lösliche heterodimere Form des oben genannten Enzyms beschrieben, welches auch aktiv ist (siehe Seite 2111, linke Spalte Absatz 2, Zeile 9 - 23, rechte Spalte Table I, Fig. 3 und Seite 21110, linke Spalte letzter Absatz).

Es wird darauf hingewiesen, daß ein Protein nicht neu wird, indem es größere

Mengen an aktivem Protein herstellt werden. Außerdem ist es nur dann neu, wenn es sich in wesentlichen Eigenschaften von dem bereits bekannten Protein unterscheidet.

Die Untereinheiten der Guanylylcyclase  $\alpha 1$  und  $\beta 1$  in D1 stammen ebenfalls aus dem Menschen, da im Methodenteil von D1 ausschließlich cDNAs menschlichen Ursprungs verwendet werden (Seite 21109, rechte Spalte, vorletzter Absatz). Der Bezug auf Seite 2110, linke Spalte, Absatz 2, Zeilen 12 und 13) auf Dokument (27) heißt nicht, daß die Herstellung der Untereinheiten  $\alpha 1$  und  $\beta 1$  aus der gleichen Spezies (Ratte oder Rind) wie in diesem Dokument angegeben ist erfolgt, sondern daß lediglich die Transfervektoren wie in Dokument (27) konstruiert wurden.

Die in Anspruch 1 angegebenen Sequenzen stellen inhärente Merkmale dar. Die Angabe von diesen Merkmalen heißt jedoch nicht, daß bereits bekannte Proteine dadurch neu werden, sondern stellen lediglich eine weitere Charakterisierung von bekannten Stoffen dar.

2. Antikörper die ein bekanntes Protein erkennen sind nicht erfinderisch, da ihre Herstellung nur Routinemaßnahmen beinhaltet.  
Auch die Auswahl einer bestimmten Peptidsequenz erfordert keinen erfinderischen Schritt, da der Fachmann mit Hilfe von Routinemaßnahmen in der Lage ist wichtige Teile herauszusuchen (Sequenzierung und Computeranalyse). Die Ansprüche 13-15 sind daher nicht erfinderisch.
3. Die gentechnischen Verfahren zur Herstellung der kodierenden Proteine in pro- und eukaryontischen Wirtszellen ist für den Fachmann ein Problem welches mit Routinemethoden gelöst wird.

Die Ansprüche 2, 3 und 6-8 sind daher nicht erfindersich.

Die Ansprüche 4 und 5 sind ebenfalls naheliegend, da die Herstellung von Guanylylcyclase Untereinheiten über "Affinitätstags" bereits aus D2 für die entsprechenden Untereinheiten aus Ratten beschrieben sind (Seite 325, linke Spalte, abstract).

4. Die therapeutische Rolle bei Herzgefäßerkrankungen

von  $\alpha 1/\beta 1$  Guanylylcyclase scheint bereits aus D3 bekannt zu sein. Eine gentherapeutische Anwendung der für Guanylylcyclase kodierenden Nukleinsäure ist daher für den Fachmann ebenfalls naheliegend.  
Die Ansprüche 9-12 sind somit nicht erfinderisch.

5. Nachdem die cDNA Sequenzen für die  $\alpha 1$  und  $\beta 1$ - Ketten der Guanylylcyclase bereits bekannt sind (D1 Seite 21190, linke Spalte 2. Absatz Zeile 7 und 8) sei es aus dem Menschen oder aus Rind oder Ratte, ist für den Fachmann naheliegend, die dafür kodierenden Untereinheiten, sowie dagegen gerichtete Antikörper abzuleiten. Ebenso ist deren Anwendung in Therapie und Medizin naheliegend.

05. Sep. 2000

5

## PATENTANSPRÜCHE

10 1. Isolierte und zur apparenten Homogenität gereinigte humane lösliche Guanylylcyclase  $\alpha 1/\beta 1$  (hsGC $\alpha 1/\beta 1$  ; SEQ ID NO:2) /  $\beta 1$  (hsGC $\beta 1$  ; SEQ ID NO:4  
 $\alpha 1$  (hsGC $\alpha 1$  ; SEQ ID NO:2), (hsGC $\beta 1$  ; SEQ ID NO  
2. Verfahren zur Herstellung der Untereinheit  $\alpha 1$  und  $\beta 1$  der humanen löslichen Guanylylcyclase, umfassend die Expression von die DNA-Sequenz für 15 hsGC $\alpha 1$  und  $\beta 1$  enthaltenden Expressionsvektoren in prokaryontischen oder eukaryontischen Wirtszellen und Gewinnung  $\alpha 1$  und  $\beta 1$  der Untereinheiten.  
Untereinheiten  
3. Verfahren zur Herstellung der Untereinheit  $\alpha 1$  und  $\beta 1$  der humanen löslichen Guanylylcyclase gemäß Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß der Schritt der Gewinnung  $\alpha 1$  und  $\beta 1$  der Untereinheiten eine Lyse der Zellen, die Affinitätschromatographie des Zell-Lysats und die anschließende Elution der Untereinheiten umfaßt  
en  
25 4. Verfahren zur Herstellung der Untereinheit  $\alpha 1$  und  $\beta 1$  der humanen löslichen Guanylylcyclase gemäß Anspruch 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, daß der Expressionsvektor zusätzlich mindestens eine DNA-Sequenz für eine Domäne zur spezifischen Affinitätschromatographie (Affinitätstag) mit anhängender Proteaseschnittstelle enthält

5. Verfahren zur Herstellung der Untereinheit  $\alpha 1$  und/oder  $\beta 1$  der humanen löslichen Guanylylcyclase gemäß Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß der Expressionsvektor die DNA-Sequenz für hsGC $\alpha 1$  mit Affinitätstag, die DNA-Sequenz für hsGC $\beta 1$  mit Affinitätstag, die DNA-Sequenz für hsGC $\alpha 1$  mit 5 Affinitätstag und die DNA-Sequenz für hsGC $\beta 1$ , die DNA-Sequenz für hsGC $\beta 1$  mit Affinitätstag und die DNA-Sequenz für hsGC $\alpha 1$  oder die DNA-Sequenz für hsGC $\alpha 1$  mit Affinitätstag und die DNA-Sequenz für hsGC $\beta 1$  mit Affinitätstag enthält.

10 6. Verfahren zur Herstellung der humanen löslichen Guanylylcyclase  $\alpha 1/\beta 1$  (hsGC $\alpha 1/\beta 1$ ), umfassend die getrennte Expression eines die DNA-Sequenz für hsGC $\alpha 1$  oder hsGC $\beta 1$  enthaltenden Expressionsvektors in prokaryontischen oder eukaryontischen Wirtszellen, Gewinnung der Untereinheiten und Kombinieren der Untereinheiten hsGC $\alpha 1$  und hsGC $\beta 1$  zur dimeren Guanylylcyclase  $\alpha 1/\beta 1$  (hsGC $\alpha 1/\beta 1$ ). 15

7. Verfahren zur Herstellung der humanen löslichen Guanylylcyclase  $\alpha 1/\beta 1$  (hsGC $\alpha 1/\beta 1$ ) gemäß Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß der Schritt der Gewinnung der Untereinheiten eine getrennte Lyse der hsGC $\alpha 1$  bzw. hsGC $\beta 1$  enthaltenden Zellen, die getrennte Affinitschromatographie der Zell-Lysate und 20 die anschließende Elution der Untereinheiten umfaßt.

25 8. Verfahren zur Herstellung der humanen löslichen Guanylylcyclase  $\alpha 1/\beta 1$  (hsGC $\alpha 1/\beta 1$ ), umfassend die Koexpression der DNA-Sequenzen für hsGC $\alpha 1$  und hsGC $\beta 1$  in prokaryontischen oder eukaryontischen Wirtszellen, eine Lyse der hsGC $\alpha 1$  und hsGC $\beta 1$  enthaltenden Zellen, die Affinitschromatographie und die anschließende Elution von hsGC $\alpha 1/\beta 1$ .

(SEQ ID NO:2) 30 9. Verwendung einer Nukleinsäuresequenz, die die Untereinheit hsGC $\alpha 1$  und/oder hsGC $\beta 1$  der humanen löslichen Guanylylcyclase  $\alpha 1/\beta 1$  kodiert, für die somatische Gentherapie.

10. Verwendung nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß Vektoren oder ein Gemisch von Vektoren, die Nukleinsäuresequenz für humane lösliche Guanylylcyclase  $\alpha 1$  (hsGC $\alpha 1$ ) und/oder humane lösliche Guanylylcyclase  $\beta 1$  (hsGC $\beta 1$ ) enthalten.

11. Verwendung nach Anspruch 9 oder 10 zur Prävention und Therapie von Atherosklerose und ihren Folgeerkrankungen, von Restenose, Ischämie (Infarkt), peripheren arteriellen Verschlußkrankheiten und arterieller Hypertonie sowie zur Prävention bei Patienten mit Risikofaktoren für Atherosklerose, transitorische ischämische Attacken, zerebrale Ischämie, Schlaganfall (Apoplex), Koronare Herzkrankheit, Zustand nach koronarer Bypass-Operation, Carotisstenose, zur Verstärkung einer Therapie mit sGC-Aktivatoren, sGC-sensitivierenden Substanzen, Stickstoffmonoxid (NO)-Donoren oder Phosphodieserase-Hemmstoffen, Herzinsuffizienz und Leberfunktionsstörungen.

12. Verwendung nach einem der Ansprüche 9 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß der somatische Gentransfer erfolgt in Endothelzellen, glatte Blutgefäßmuskelzellen, Neointimazellen, Fibroblasten oder andere Blutgefäßzellen oder in die korpuskulären Blutbestandteile (Thrombozyten, Leukozyten und andere) oder in die Leber.

13. Antikörper gegen humane lösliche Guanylylcyclase  $\alpha 1/\beta 1$  (hsGC $\alpha 1/\beta 1$ ),  
SEQ ID NO:2) /  $\beta 1$  (hsGC $\beta 1$ ; SEQ ID NO:4)  
erhältlich durch Immunisieren eines Säugers mit hsGC $\alpha 1/\beta 1$ , der Untereinheit  $\alpha 1$  oder  $\beta 1$  oder immunogenen Peptidfragmenten davon und Isolieren der Antikörper. >

14. Antikörper nach Anspruch 13, erhältlich durch Immunisieren eines Säugers mit dem Peptidfragment Phe-Thr-Pro-Arg-Ser-Arg-Glu-Glu-Leu-Pro-Pro-Asn-Phe-Pro oder Teilen hieraus oder hiermit überlappenden immunogenen Peptidfragmenten oder

41 05. Sep. 2001

15. Antikörper nach Anspruch 13, herhältlich durch Immunisieren eines Säugers mit dem Peptidfragment Lys-Gly-Lys-Lys-Glu-Pro-Met-Gln-Val-Trp-Phe-Leu-Ser-Arg-Lys-Asn-Thr-Gly-Thr-Glu-Glu-Thr oder immunogenen Fragment oder hiermit 5 überlappenden immunogenen Peptidfragmenten <      >.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l Application No  
PCT/DE 99/02601

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 7 C12N15/60 C12N15/62 C12N9/88 C12P21/02 C07K16/40  
A61K48/00 A61P9/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 7 C12N C12P C07K A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	✓ BEHRENDS ET AL.: "A variant of the alpha 2 subunit of soluble guanylyl cyclase contains an insert homologous to a region within adenylyl cyclases and functions as a dominant negative protein" THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 270, no. 36, 8 September 1995 (1995-09-08), pages 21109-21113, XP002132769 page 21109 -page 21111; figure 3; table 1	1-13, 15
X	✓ GANSEMANS ET AL.: "Human soluble guanylate cyclase large subunit mRNA, alpha3-like" EMBL DATABASE ACC NO: U58855, 9 January 1998 (1998-01-09), XP002132770 abstract	1-13



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the International filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the International filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the International search

16 March 2000

Date of mailing of the International search report

03/04/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentstaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

van Klompenburg, W

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l. Application No.  
PCT/DE 99/02601

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		Relevant to claim No.
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	
X	✓ GIULI ET AL.: "Molecular cloning of the cDNAs coding for the two subunits of soluble guanylyl cyclase from human brain" FEBS LETTERS, vol. 304, June 1992 (1992-06), pages 83-88, XP002132771 cited in the application figures 1,2,4	1-13
X	✓ GUPTA ET AL.: "Expression and purification of soluble, active heterodimeric guanylyl cyclase from baculovirus" PROTEIN EXPRESSION AND PURIFICATION, vol. 10, no. 3, August 1997 (1997-08), pages 325-330, XP000877369 page 325 -page 328; figures 3-5; table 1	1-13
A	✓ OLSON ET AL.: "Selective guanylyl cyclase inhibitor reverses nitric oxide-induced vasorelaxation" HYPERTENSION, vol. 29, 1997, pages 254-261, XP002132772 page 255; figures 1,2	9-12
P,X	✓ ZABEL ET AL.: "Human soluble guanylate cyclase: functional expression and revised isoenzyme family" BIOCHEMICAL JOURNAL, vol. 335, October 1998 (1998-10), pages 51-57, XP002132773 figures 1-3,5	1-8, 13-15
P,X	✓ ZABEL ET AL.: "Homodimerization of soluble guanylyl cyclase subunits" THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 274, no. 26, 25 June 1999 (1999-06-25), pages 18149-18152, XP002132774 page 18150, column 2 -page 18152; figures 1-3	1-8, 13-15

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/DE99/02601

**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  

Observation : Although Claims Nos. 9-12 relate to a method of treatment for the human or animal body, the search was carried out and was based on the cited effects of the compound or composition.
2.  Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3.  Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see annexe

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International Application No

PCT/DE99/02601

The International Searching Authority found that this international application contains multiple inventions, as follows :

**1. Claims Nos. 1-8**

Isolated and purified human soluble guanylylclase alphal/betal for apparent homogeneity. A method for the production of human soluble guanylylclase alphal/betal and a method for the production of the sub-unit alphal and/or betal of human soluble guanylylclase alphal/betal.

**2. Claims Nos. 9-12**

Use of a nucleic acid sequence that codes for the sub-unit alphal and/or betal of human soluble guanylylclase alphal/betal for somatic gene therapy.

**3. Claims Nos. 13-15**

Antibodies against human soluble guanylylclase alphal/betal that can be obtained by immunization of a mammal with hsGCalphal/betal of sub-unit alphal or betal or immunogenic peptide fragments thereof and isolation of the antibodies.

REPLACED BY  
ART 34 AMDT

Claims:

1. Isolated human soluble guanylyl cyclase  $\alpha 1/\beta 1$  (hsGC $\alpha 1/\beta 1$ ) purified to apparent homogeneity.

5

2. A method for the production of  $\alpha 1$  and/or  $\beta 1$  subunits of human soluble guanylyl cyclase comprising the expression in prokaryotic or eukaryotic host cells of expression vectors containing the DNA sequence of hsGC $\alpha 1$  and/or hsGC $\beta 1$  and obtaining the subunit or subunits.

10

3. The method for producing the  $\alpha 1$  and/or  $\beta 1$  subunits of human soluble guanylyl cyclase according to claim 2, wherein the step of obtaining the subunit or subunits comprises a lysis of the cells, the affinity chromatography of the cell lysate, and the subsequent elution of the subunit or subunits.

15

4. The method for producing the  $\alpha 1$  and/or  $\beta 1$  subunits of human soluble guanylyl cyclase according to claim 2 or 3, wherein the expression vector contains at least one additional DNA sequence coding for a domain for the specific affinity chromatography (affinity tag) with appended protease cleavage site.

20

5. The method for producing  $\alpha 1$  and/or  $\beta 1$  subunits of human soluble guanylyl cyclase according to claim 4, wherein the expression vector contains the DNA sequence for hsGC $\alpha 1$  with affinity tag, the DNA sequence for hsGC $\beta 1$  with affinity tag, the DNA sequence for hsGC $\alpha 1$  with affinity tag, and the DNA sequence for hsGC $\beta 1$ , the DNA sequence for hsGC $\beta 1$  with affinity tag and the DNA sequence for hsGC $\alpha 1$ , or the DNA sequence hsGC $\alpha 1$  with affinity tag and the DNA sequence for hsGC $\beta 1$  with affinity tag.

25

30

6. The method for producing human soluble guanylyl cyclase  $\alpha 1/\beta 1$  (hsGC $\alpha 1/\beta 1$ ) comprising the separate expression in prokaryotic or eukaryotic host cells of an expression vector containing the DNA sequence for hsGC $\alpha 1$  or hsGC $\beta 1$ ,

extraction of the subunits, and reconstitution of subunits hsGC $\alpha$ 1 and hsGC $\beta$ 1 to form the dimeric guanylyl cyclase  $\alpha$ 1/ $\beta$ 1 (hsGC $\alpha$ 1/ $\beta$ 1).

7. The method for producing human soluble guanylyl cyclase  $\alpha$ 1/ $\beta$ 1 (hsGC $\alpha$ 1/ $\beta$ 1) according to claim 6, wherein the step for the purification of the subunits consists of a separate lysis of cells containing hsGC $\alpha$ 1 or hsGC $\beta$ 1, the separate affinity chromatography of the cell lysates, and the subsequent elution of the subunits.

10 8. The method for producing human soluble guanylyl cyclase  $\alpha$ 1/ $\beta$ 1 (hsGC $\alpha$ 1/ $\beta$ 1) consisting of the coexpression of the DNA sequences of hsGC $\alpha$ 1 and hsGC $\beta$ 1 in prokaryotic or eukaryotic host cells, a lysis of the cells containing hsGC $\alpha$ 1 and hsGC $\beta$ 1, and affinity chromatography and subsequent elution of hsGC $\alpha$ 1/ $\beta$ 1.

15 9. Use of a nucleotide sequence encoding the hsGC $\alpha$ 1 and/or hsGC $\beta$ 1 subunits of human soluble guanylyl cyclase  $\alpha$ 1/ $\beta$ 1 for somatic gene therapy.

20 10. Use according to claim 9, wherein vectors or a mixture of vectors contain the nucleotide sequence of human soluble guanylyl cyclase  $\alpha$ 1 (hsGC $\alpha$ 1) and/or human soluble guanylyl cyclase  $\beta$ 1 (hsGC $\beta$ 1).

25 11. Use according to claim 9 or 10 for the prevention and therapy of atherosclerosis and its complications, of restenosis, ischemia (infarction), peripheral arterial occlusive diseases, and arterial hypertension as well as for the prevention of atherosclerosis in patients with risk factors, transient ischemic attacks, cerebral ischemia, stroke (Apoplex), coronary heart disease, status post coronary bypass grafting, carotid stenosis, heart insufficiency and liver dysfunction, and as a supplement to therapy with sGC activators, sGC-sensitizing substances, NO donors, or phosphodiesterase inhibitors.

30 12. Use according to claims 9 to 11, wherein the somatic gene transfer is carried out with endothelial cells, vascular smooth muscle cells, neointimal cells,

fibroblasts, or other vascular cells or blood particles (platelets, leukocytes, and others), or liver.

13. Antibodies against human soluble guanylyl cyclase  $\alpha 1/\beta 1$  (hsGC  $\alpha 1/\beta 1$ ),  
5 obtainable by immunization of a mammal with hsGC $\alpha 1/\beta 1$ , the  $\alpha 1$  or  $\beta 1$  subunit, or immunogenic peptide fragments thereof and isolation of the antibodies.

14. Antibodies according to claim 13 obtainable by immunization of a mammal  
10 with the peptide fragment Phe-Thr-Pro-Arg-Ser-Arg-Glu-Glu-Leu-Pro-Pro-Asn-Phe-Pro, or parts thereof, or immunogenic peptide fragments that overlap with this fragment.

15. Antibodies according to claim 13 obtainable by immunization of a mammal  
with the peptide fragment Lys-Gly-Lys-Lys-Glu-Pro-Met-Gln-Val-Trp-Phe-Leu-Ser-Arg-Lys-Asn-Thr-Gly-Thr-Glu-Glu-Thr or immunogenic fragment or immunogenic peptide fragments that overlap with this fragment.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Inv. Cation No  
PCT/DE 99/02601

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**

IPC 7 C12N15/60	C12N15/62	C12N9/88	C12P21/02	C07K16/40
A61K48/00	A61P9/10			

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12N C12P C07K A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	BEHRENDS ET AL.: "A variant of the alpha 2 subunit of soluble guanylyl cyclase contains an insert homologous to a region within adenylyl cyclases and functions as a dominant negative protein" THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 270, no. 36, 8 September 1995 (1995-09-08), pages 21109-21113, XP002132769 page 21109 -page 21111; figure 3; table 1	1-13, 15
X	GANSEMANS ET AL.: "Human soluble guanylylate cyclase large subunit mRNA, alpha3-like" EMBL DATABASE ACC NO: U58855, 9 January 1998 (1998-01-09), XP002132770 abstract	1-13



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the International filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the International filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the Invention

"X" document of particular relevance; the claimed Invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed Invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the International search

16 March 2000

Date of mailing of the International search report

03/04/2000

## Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax. (+31-70) 340-3016

## Authorized officer

van Klompenburg, W

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l Application No

PCT/DE 99/02601

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GIUILI ET AL.: "Molecular cloning of the cDNAs coding for the two subunits of soluble guanylyl cyclase from human brain" FEBS LETTERS, vol. 304, June 1992 (1992-06), pages 83-88, XP002132771 cited in the application figures 1,2,4	1-13
X	GUPTA ET AL.: "Expression and purification of soluble, active heterodimeric guanylyl cyclase from baculovirus" PROTEIN EXPRESSION AND PURIFICATION, vol. 10, no. 3, August 1997 (1997-08), pages 325-330, XP000877369 page 325 -page 328; figures 3-5; table 1	1-13
A	OLSON ET AL.: "Selective guanylyl cyclase inhibitor reverses nitric oxide-induced vasorelaxation" HYPERTENSION, vol. 29, 1997, pages 254-261, XP002132772 page 255; figures 1,2	9-12
P,X	ZABEL ET AL.: "Human soluble guanylate cyclase: functional expression and revised isoenzyme family" BIOCHEMICAL JOURNAL, vol. 335, October 1998 (1998-10), pages 51-57, XP002132773 figures 1-3,5	1-8, 13-15
P,X	ZABEL ET AL.: "Homodimerization of soluble guanylyl cyclase subunits" THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 274, no. 26, 25 June 1999 (1999-06-25), pages 18149-18152, XP002132774 page 18150, column 2 -page 18152; figures 1-3	1-8, 13-15

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
  
Observation : Although Claims Nos. 9-12 relate to a method of treatment for the human or animal body, the search was carried out and was based on the cited effects of the compound or composition.
2.  Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3.  Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see annex

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

## Remark on Protest

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

No protest accompanied the payment of additional search fees.

The International Searching Authority found that this international application contains multiple inventions, as follows :

1. Claims Nos. 1-8

Isolated and purified human soluble guanylylclase alphal/betal for apparent homogeneity. A method for the production of human soluble guanylylclase alphal/betal and a method for the production of the sub-unit alphal and/or betal of human soluble guanylylclase alphal/betal.

2. Claims Nos. 9-12

Use of a nucleic acid sequence that codes for the sub-unit alphal and/or betal of human soluble guanylylclase alphal/betal for somatic gene therapy.

3. Claims Nos. 13-15

Antibodies against human soluble guanylylclase alphal/betal that can be obtained by immunization of a mammal with hsGCalphal/betal of sub-unit alphal or betal or immunogenic peptide fragments thereof and isolation of the antibodies.

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Inta	na	anzeichen
PCT/DE 99/02601		

## A. KLASSEFIZIERTUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7	C12N15/60	C12N15/62	C12N9/88	C12P21/02	C07K16/40
	A61K48/00	A61P9/10			

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestpräzisierung (Klassifikationssystem und Klassifikationsymbole)

IPK 7 C12N C12P C07K A61K A61P

Recherchierte aber nicht zum Mindestpräzisierung gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

## C. ALS WESENTLICH ANGEBEHNE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	BEHREND S ET AL.: "A variant of the alpha 2 subunit of soluble guanylyl cyclase contains an insert homologous to a region within adenylyl cyclases and functions as a dominant negative protein" THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, Bd. 270, Nr. 36, 8. September 1995 (1995-09-08), Seiten 21109-21113, XP002132769 Seite 21109 -Seite 21111; Abbildung 3; Tabelle 1	1-13, 15
X	GANSEMANS ET AL.: "Human soluble guanylate cyclase large subunit mRNA, alpha3-like" EMBL DATABASE ACC NO: U58855, 9. Januar 1998 (1998-01-09), XP002132770 Zusammenfassung	1-13



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besondere Bedeutung anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem Internationalen Anmelde datum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem Internationalen Anmelde datum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem Internationalen Anmelde datum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erforderlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nachlegend ist

"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche

Abmeldedatum des Internationalen Recherchenberichts

16. März 2000

03/04/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchebehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax. (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

van Klompenburg, W

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGEBEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	GIUILI ET AL.: "Molecular cloning of the cDNAs coding for the two subunits of soluble guanylyl cyclase from human brain" FEBS LETTERS, Bd. 304, Juni 1992 (1992-06), Seiten 83-88, XP002132771 in der Anmeldung erwähnt Abbildungen 1,2,4	1-13
X	GUPTA ET AL.: "Expression and purification of soluble, active heterodimeric guanylyl cyclase from baculovirus" PROTEIN EXPRESSION AND PURIFICATION, Bd. 10, Nr. 3, August 1997 (1997-08), Seiten 325-330, XP000877369 Seite 325 -Seite 328; Abbildungen 3-5; Tabelle 1	1-13
A	OLSON ET AL.: "Selective guanylyl cyclase inhibitor reverses nitric oxide-induced vasorelaxation" HYPERTENSION, Bd. 29, 1997, Seiten 254-261, XP002132772 Seite 255; Abbildungen 1,2	9-12
P,X	ZABEL ET AL.: "Human soluble guanylyl cyclase: functional expression and revised isoenzyme family" BIOCHEMICAL JOURNAL, Bd. 335, Oktober 1998 (1998-10), Seiten 51-57, XP002132773 Abbildungen 1-3,	1-8, 13-15
P,X	ZABEL ET AL.: "Homodimerization of soluble guanylyl cyclase subunits" THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, Bd. 274, Nr. 26, 25. Juni 1999 (1999-06-25), Seiten 18149-18152, XP002132774 Seite 18150, Spalte 2 -Seite 18152; Abbildungen 1-3	1-8, 13-15

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Informations-Aktenzeichen

PCT/DE 99/ 02601

## Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1.  Ansprüche Nr.  
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich  
**Bemerkung:** Obwohl die Ansprüche 9-12 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.
2.  Ansprüche Nr.  
weil sie sich auf Teile der Internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3.  Ansprüche Nr.  
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

## Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

**siehe Zusatzblatt**

1.  Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2.  Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3.  Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4.  Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.  
 Die Zahlung zusätzlicher Recherchengebühren erfolgte ohne Widerspruch.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

1. Ansprüche: 1-8

Isolierte und zur apparenten Homogenität gereinigte humane lösliche guanylylcyclase alpha1/beta1. Ein Verfahren zur Herstellung der humanen löslichen guanylylcyclase alpha1/beta1 und ein Verfahren zur Herstellung der Untereinheit alpha1 und/oder beta1 der humanen löslichen Guanylylcyclase

2. Ansprüche: 9-12

Verwendung einer Nukleinsäuresequenz, die die Untereinheit alpha1 und/oder beta1 der humanen löslichen guanylylcyclase alpha1/beta1 kodiert, für die somatische Gentherapie

3. Ansprüche: 13-15

Antikörper gegen humane lösliche Guanylylcyclase alpha1/beta1 erhältlich durch Immunisieren eines Säugers mit hSGCalpha1/beta1, der Untereinheit alpha1 oder beta1 oder immunogenen Peptidfragmenten davon und Isolieren der Antikörper.